UNIVERSITÀ DI TORINO

*Alla Cortese Attenzione delle Presidentesse delle Associazioni Orchestra per la Vita e MC4 – in Corsa per la Vita*

**Studio delle caratteristiche immuno-metaboliche del microambiente e del parenchima tumorale in pazienti affetti da sarcoma epitelioide tramite tecniche di metabolomica spaziale e imaging-mass cytometry per l'individuazione di meccanismi di resistenza alle terapie convenzionali e nuovi potenziali target terapeutici.**

*Principal Investigator:*

Alessandra Merlini, MD PhD, Laboratorio di Oncologia Traslazionale P. Gilardi e Divisione di Oncologia Medica, Dipartimento di Oncologia, Università di Torino

*Collaboratori interni:*

Dario Sangiolo, MD PhD, Laboratorio di Oncologia Traslazionale P. Gilardi, Dipartimento di Oncologia, Università di Torino, e IRCCS Candiolo, Torino

Lorenzo D'Ambrosio, MD PhD, Clinical Sarcoma Research, Dipartimento di Oncologia, Università di Torino

*Collaboratori esterni:*

Dr. Sandro Pasquali, MD PhD, Istituto Nazionale Tumori, Milano

Prof. N. De Miranda, PhD, Università di Leida, Paesi Bassi

UNIVERSITÀ DI TORINO

**Premesse e razionale.**

I sarcomi dei tessuti molli (STS) costituiscono un eterogeneo gruppo di tumori rari e ultra-rari ad origine mesenchimale spesso accomunati, negli stadi avanzati, da una scarsa efficacia delle terapie disponibili. Epidemiologicamente rappresentano circa il 70-80% di tutti i sarcomi ed interessano un'ampia fascia d'età, includendo adolescenti e giovani adulti, costituendo un rilevante problema socio-sanitario e oggetto di intensi sforzi da parte della ricerca scientifica. Globalmente il gruppo eterogeneo dei "tumori rari" rappresenta circa 1/5 di tutte le neoplasie in Europa e tra questi i STS sono quelli a maggior incidenza, stimata in Italia in circa 6.27 per 100,000/anno (1-4). Il sarcoma epitelioide rappresenta un sottotipo istologico ultra-raro (quindi con una incidenza inferiore a 1 nuovo caso per milione di abitanti /anno) (5,6) con un importante bisogno di strategie efficaci, soprattutto per il trattamento della malattia in stadio avanzato e metastatico. Negli stadi avanzati/inoperabili e metastatici, è infatti attualmente privo di efficaci opzioni terapeutiche. I trattamenti chemioterapici convenzionali hanno prodotto purtroppo risultati molto limitati (7) e, pur riconoscendo gli incoraggianti dati iniziali ottenuti con tazemetostat (8), la prognosi di questi Pazienti rimane sostanzialmente negativa sottolineando il bisogno di proseguire e promuovere ricerche e strategie innovative per migliorare la cura del sarcoma epitelioide in modo sostanziale per i Pazienti. A tale scopo, è fondamentale incrementare le conoscenze biologiche di base e di carattere traslazionale sul sarcoma epitelioide, auspicabilmente tramite sforzi di ricerca collaborativi a carattere nazionale e sovranazionale. (9)

È noto come le alterazioni epigenetiche siano frequentemente alla base degli squilibri metabolici osservati nel parenchima e microambiente tumorale, e come epigenetica e metabolismo abbiano profonde influenze sulla componente immunitaria de microambiente e sulla risposta antitumorale. (10-12)

Grazie all'introduzione di nuove tecniche come la metabolomica spaziale, è ora possibile studiare il *crosstalk* tra metabolismo ed epigenetica del cancro, permettendone una risoluzione spaziale. Il Dipartimento di Oncologia ed il Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche dell'Università di Torino condividono il centro di ricerca metabolomica interdipartimentale Atlantis, dove si trova lo strumento MALDI per la metabolomica spaziale. Il nostro gruppo di ricerca è coinvolto attivamente nello sviluppo di expertise dedicata con MALDI-imaging. In breve, la strumentazione MALDI-imaging permette di identificare la localizzazione spaziale di piccole molecole, metaboliti, lipidi e proteine intere o peptidi su preparati di tessuto (congelati, FFPE) o organoidi. Tecniche di metabolomica "bulk" (HPLC-tims-TOF) verranno invece utilizzate per studiare cambiamenti metabolici in linee

cellulari di sarcoma epitelioide dopo trattamenti convenzionali, con “metabolic modifiers” e con combinazioni delle due strategie.

La risoluzione spaziale ottenuta tramite spatial metabolomics-MALDI può poi raggiungere una risoluzione cellulare, integrandosi con metodiche quali l’imaging mass cytometry (IMC). L’IMC è una tecnologia di ultima generazione in grado di fornire informazioni spaziali a singola cellula, consentendo la contemporanea caratterizzazione dell’architettura tissutale, dei fenotipi cellulari e delle interazioni presenti nel microambiente. La metodologia integra le potenzialità della citometria di massa con anticorpi coniugati a isotopi metallici, superando le limitazioni tecniche di imaging convenzionali, quali le sovrapposizioni spettrali e l’interferenza da autofluorescenza. Applicabile sia su sezioni di tessuto paraffinate che congelati a fresco, l’IMC permette, tramite l’ablazione laser del tessuto, la ionizzazione degli isotopi metallici che vengono rilevati dal citometro di massa a tempo di volo (Cytometry Time Of Flight) consentendo una ricostruzione ad alta definizione dell’organizzazione spaziale e delle dinamiche cellulari nel microambiente. Nel contesto del presente progetto, l’IMC, in collaborazione con il Prof. De Miranda della Università di Leida, permetterebbe di esplorare il microambiente del sarcoma epitelioide per meglio comprenderne l’eterogeneità tumorale, l’infiltrato immunitario, nonché la valutazione del potenziale predittivo rispetto all’immunoterapia.

**Obiettivo dello studio**

Obiettivo primario del presente progetto è quindi lo studio del profilo immuno-metabolico del sarcoma epitelioide e del microambiente tumorale con metodologie innovative, a nostra miglior conoscenza mai prima d’ora applicate a questo sottotipo di sarcoma. L’acquisizione di tali informazioni tramite metodiche a precisione molecolare e cellulare, basate su tecniche di spettrometria di massa, permetterà di investigare potenziali meccanismi di resistenza a trattamenti convenzionali e di carattere immunoterapico nel sarcoma epitelioide, e auspicabilmente di individuare “vulnerabilità metaboliche” che possano costituire non obiettivo unico terapeutico, ma un “adiuvante” a strategie terapeutiche che rispondano a caratteristiche di disegno biologicamente razionale nel sarcoma epitelioide.

<u>Obiettivi specifici</u>

- Mappare l’eterogeneità metabolica e immunitaria del sarcoma epitelioide e del suo microambiente tumorale con tecniche di IMC e spatial metabolomics su campioni primari (tessuto fresco e paraffinato)

- Correlare i pattern metabolici con la immune contexture, descritta nella sua componente spaziale tramite IMC per mappare eventuali nicchie immunometaboliche
- Identificare potenziali meccanismi metabolici di resistenza ai trattamenti convenzionali e contestualmente nuovi target per strategie terapeutiche che integrino l'uso di *metabolic modifiers,* tramite un approccio di bulk metabolomics applicato a linee cellulari di sarcoma epitelioide trattate *in vitro*

**Rilevanza traslazionale**

Il presente progetto riconosce una doppia valenza, coniugando l'obiettivo di una maggiore conoscenza del profilo immuno-metabolico del sarcoma epitelioide, con la ricerca di nuovi target terapeutici e meccanismi di potenziale resistenza ai trattamenti convenzionali. Il progetto è di natura traslazionale ma con una chiara prospettiva volta all'applicazione clinica, mirando a produrre basi biologico-traslazionali sfruttabili, soprattutto in integrazione con i trattamenti correnti, per il disegno di protocolli clinici innovativi in Pazienti affetti da sarcoma epitelioide in fase avanzata.

**Fattibilità, infrastrutture e collaborazioni**

Il progetto potrà contare su un laboratorio dotato di tecnologie ed attrezzature, sia in ambito di biologia cellulare che molecolare, idonee alla realizzazione degli obiettivi preposti. In aggiunta, la ricerca usufruirà di tutte le facilities condivise a livello dipartimentale, dalla citofluorimetria, alla microscopia ed imaging di ultima generazione. Il gruppo di ricerca in Oncologia Traslazionale dei sarcomi, coordinato dalla Dr.ssa Merlini, ha già in essere la piattaforma sperimentale necessaria permettendo un ammortamento di costi e reagenti condivisi con altre progettualità. È in atto una stretta collaborazione con il gruppo di Immunoterapia Cellulare (Prof. Sangiolo, Università di Torino), con il gruppo di Ricerca Clinica sui sarcomi (Prof. D'Ambrosio, Università di Torino) ed il Dr. Sandro Pasquali (INT Milano), che supportano la disponibilità di campioni biologici e la prospettiva di espansioni sperimentali nonché l'impegno, le infrastrutture e la prospettiva per il futuro disegno di eventuali studi clinici correlati. Infine, il recente avvio di una collaborazione con il Prof. De Miranda della Università di Leida (NL), leader internazionale nel campo dello studio del contesto immunologico nel cancro tramite tecniche di IMC, assicurerà la presenza di un collaboratore autorevole nel campo, assicurando la solidità metodologica e applicativa di questa innovativa tecnologia.

UNIVERSITÀ DI TORINO

Si rimane a disposizione per qualsiasi ulteriore approfondimento sul progetto e ulteriore dettaglio; segue bibliografia.

Orbassano, 26 Giugno 2025

Alessandra Merlini

UNIVERSITÀ DI TORINO

**Bibliografia**

1. Trama A, Badalamenti G, Baldi GG, Brunello A, Caira M, Drove N, Marrari A, Palmerini E, Vincenzi B, Dei Tos AP, Grignani G. Soft tissue sarcoma in Italy: From epidemiological data to clinical networking to improve patient care and outcomes. Cancer Epidemiol. 2019 Apr;59:258-264. doi: 10.1016/j.canep.2019.02.012. Epub 2019 Mar 11. PMID: 30870746.

2. von Mehren M, Kane JM, Agulnik M, Bui MM, Carr-Ascher J, Choy E, Connelly M, Dry S, Ganjoo KN, Gonzalez RJ, Holder A, Homsi J, Keedy V, Kelly CM, Kim E, Liebner D, McCarter M, McGarry SV, Mesko NW, Meyer C, Pappo AS, Parkes AM, Petersen IA, Pollack SM, Poppe M, Riedel RF, Schuetze S, Shabason J, Sicklick JK, Spraker MB, Zimel M, Hang LE, Sundar H, Bergman MA. Soft Tissue Sarcoma, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2022 Jul;20(7):815-833. doi: 10.6004/jnccn.2022.0035. PMID: 35830886; PMCID: PMC10186762.

3. Gatta G, Capocaccia R, Botta L, Mallone S, De Angelis R, Ardanaz E, Comber H, Dimitrova N, Leinonen MK, Siesling S, van der Zwan JM, Van Eycken L, Visser O, Žakelj MP, Anderson LA, Bella F, Kaire I, Otter R, Stiller CA, Trama A; RARECAREnet working group. Burden and centralised treatment in Europe of rare tumours: results of RARECAREnet-a population-based study. Lancet Oncol. 2017 Aug;18(8):1022-1039. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30445-X. Epub 2017 Jul 4. Erratum in: Lancet Oncol. 2017 Aug;18(8):e433. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30531-4. PMID: 28687376.

4. Gronchi A, Miah AB, Dei Tos AP, Abecassis N, Bajpai J, Bauer S, Biagini R, Bielack S, Blay JY, Bolle S, Bonvalot S, Boukovinas I, Bovee JVMG, Boye K, Brennan B, Brodowicz T, Buonadonna A, De Álava E, Del Muro XG, Dufresne A, Eriksson M, Fagioli F, Fedenko A, Ferraresi V, Ferrari A, Frezza AM, Gasperoni S, Gelderblom H, Gouin F, Grignani G, Haas R, Hassan AB, Hecker-Nolting S, Hindi N, Hohenberger P, Joensuu H, Jones RL, Jungels C, Jutte P, Kager L, Kasper B, Kawai A, Kopeckova K, Krákorová DA, Le Cesne A, Le Grange F, Legius E, Leithner A, Lopez-Pousa A, Martin-Broto J, Merimsky O, Messiou C, Mir O, Montemurro M, Morland B, Morosi C, Palmerini E, Pantaleo MA, Piana R, Piperno-Neumann S, Reichardt P, Rutkowski P, Safwat AA, Sangalli C, Sbaraglia M, Scheipl S, Schöffski P, Sleijfer S, Strauss D, Strauss S, Sundby Hall K, Trama A, Unk M, van de Sande MAJ, van der Graaf WTA, van Houdt WJ, Frebourg T, Casali PG, Stacchiotti S; ESMO Guidelines Committee, EURACAN and GENTURIS. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN-GENTURIS Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up☆. Ann Oncol. 2021 Nov;32(11):1348-1365. doi: 10.1016/j.annonc.2021.07.006. Epub 2021 Jul 22. PMID: 34303806.

5. Merlini A, Dei Tos AP, Pantziarka P, Stacchiotti S. Approaches to Ultra-Rare Sarcomas: Definitions, Diagnostics, and Therapies. Hematol Oncol Clin North Am. 2025 May 13:S0889-8588(25)00046-2. doi: 10.1016/j.hoc.2025.04.008. Epub ahead of print. PMID: 40368740.

6. Stacchiotti S, Frezza AM, Blay JY, Baldini EH, Bonvalot S, Bovée JVMG, Callegaro D, Casali PG, Chiang RC, Demetri GD, Demicco EG, Desai J, Eriksson M, Gelderblom H, George S, Gounder MM, Gronchi A, Gupta A, Haas RL, Hayes-Jardon A, Hohenberger P, Jones KB, Jones RL, Kasper B, Kawai A, Kirsch DG, Kleinerman ES, Le Cesne A, Lim J, Chirlaque López MD, Maestro R, Marcos-Gragera R, Martin Broto J, Matsuda T, Mir O, Patel SR, Raut CP, Razak ARA, Reed DR, Rutkowski P, Sanfilippo RG, Sbaraglia M, Schaefer IM, Strauss DC, Sundby Hall K, Tap WD, Thomas DM, van der Graaf WTA, van Houdt WJ, Visser O, von Mehren M, Wagner AJ, Wilky BA, Won YJ, Fletcher CDM, Dei Tos AP, Trama A. Ultra-rare sarcomas: A consensus paper from the Connective Tissue Oncology Society community of experts on the incidence threshold and the list of entities. Cancer. 2021 Aug 15;127(16):2934-2942. doi: 10.1002/cncr.33618. Epub 2021 Apr 28. PMID: 33910263; PMCID: PMC8319065.

7. Frezza AM, Jones RL, Lo Vullo S, Asano N, Lucibello F, Ben-Ami E, et al. Anthracycline, Gemcitabine, and Pazopanib in Epithelioid Sarcoma: A Multi-institutional Case Series. JAMA Oncol. 2018;4(9):e180219.

8. Gounder M, Schöffski P, Jones RL, Agulnik M, Cote GM, Villalobos VM, et al. Tazemetostat in advanced epithelioid sarcoma with loss of INI1/SMARCB1: an international, open-label, phase 2 basket study. Lancet Oncol. 2020;21(11):1423-32.

9. Grünewald TGP, Postel-Vinay S, Nakayama RT, Berlow NE, Bolzicco A, Cerullo V, Dermawan JK, Frezza AM, Italiano A, Jin JX, Le Loarer F, Martin-Broto J, Pecora A, Perez-Martinez A, Tam YB, Tirode F, Trama A, Pasquali S, Vescia M, Wortmann L, Wortmann M, Yoshida A, Webb K, Huang PH, Keller C, Antonescu CR. 10. Translational Aspects of Epithelioid Sarcoma: Current Consensus. Clin Cancer Res. 2024 Mar 15;30(6):1079-1092. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-23-2174. PMID: 37916971; PMCID: PMC10947972.

11. Ge T, Gu X, Jia R, Ge S, Chai P, Zhuang A, Fan X. Crosstalk between metabolic reprogramming and epigenetics in cancer: updates on mechanisms and therapeutic opportunities. Cancer Commun (Lond). 2022 Nov;42(11):1049-1082. doi: 10.1002/cac2.12374. Epub 2022 Oct 20. PMID: 36266736; PMCID: PMC9648395.

12. Stine ZE, Schug ZT, Salvino JM, Dang CV. Targeting cancer metabolism in the era of precision oncology. Nat Rev Drug Discov. 2022 Feb;21(2):141-162. doi: 10.1038/s41573-021-00339-6. Epub 2021 Dec 3. PMID: 34862480; PMCID: PMC8641543.

13. Xia L, Oyang L, Lin J, Tan S, Han Y, Wu N, Yi P, Tang L, Pan Q, Rao S, Liang J, Tang Y, Su M, Luo X, Yang Y, Shi Y, Wang H, Zhou Y, Liao Q. The cancer metabolic reprogramming and immune response. Mol Cancer. 2021 Feb 5;20(1):28. doi: 10.1186/s12943-021-01316-8. PMID: 33546704; PMCID: PMC7863491.